

**PATENT ABSTRACTS OF JAPAN**

(11)Publication number : 06-087716

(43)Date of publication of application : 29.03.1994

(51)Int.Cl.

A01N 63/00  
C12N 1/20

(21)Application number : 04-241015

(71)Applicant : CENTRAL GLASS CO LTD

(22)Date of filing : 09.09.1992

(72)Inventor : TAKAHARA YOSHIYUKI  
IWABUCHI TETSUYA  
SHIODA MASAYUKI**(54) METHOD FOR CONTROLLING BACTERIOSIS OF DAMPING-OFF OF RICE PLANT****(57)Abstract:**

**PURPOSE:** To effectively control bacteriosis of damping-off of rice plant regarded to be difficult to suppress by treating unhulled rice or soil in a nursery bed with a bacterium of *Erwinia carotovora* deficient in pathogenicity.

**CONSTITUTION:** Unhulled rice or soil in a nursery bed is treated with a bacterium of *Erwinia carotovora* deficient in pathogenicity, preferably *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* CGE234M403 (FERM P-11,792) to control bacteriosis of damping-off of rice plant caused by a bacterium of *Pseudomonas plantari*. As a method for the treatment, unhulled rice is immersed in a suspension containing a strain deficient in pathogenicity or sprinkled with powder containing a strain deficient in pathogenicity and planted in soil, a suspension, powder or granules containing a strain deficient in pathogenicity is drenched or blended with seedling stocks and unhulled rice is planted in the seedling stocks or soil in a nursery bed in which unhulled rice is planted is sprinkled with a suspension containing a strain deficient in pathogenicity.

(19)日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11)特許出願公開番号

特開平6-87716

(43)公開日 平成6年(1994)3月29日

(51)Int.Cl. <sup>5</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 0 1 N 63/00	F	8517-4H		
C 1 2 N 1/20		7236-4B		

審査請求 未請求 請求項の数5(全 5 頁)

(21)出願番号 特願平4-241015

(22)出願日 平成4年(1992)9月9日

(71)出願人 000002200

セントラル硝子株式会社

山口県宇部市大字沖宇部5253番地

(72)発明者 高原 吉幸

埼玉県川越市今福中台2805番地 セントラ

ル硝子株式会社東京研究所内

(72)発明者 岩淵 哲哉

埼玉県川越市今福中台2805番地 セントラ

ル硝子株式会社東京研究所内

(72)発明者 塩田 正幸

埼玉県川越市今福中台2805番地 セントラ

ル硝子株式会社東京研究所内

(74)代理人 弁理士 坂本 栄一

(54)【発明の名称】 イネ苗立枯細菌病の防除方法

(57)【要約】

【構成】 イネ苗立枯細菌病の防除方法であり、イネ籾を病原性を欠失させたエルビニア・カロトボーラ細菌を含む懸濁液中に浸漬した後、土壌中に植え付けることによる方法、イネ籾に病原性を欠失させたエルビニア・カロトボーラ細菌を含む粉末をまぶした後、土壌中に植え付けることによる方法、苗床に病原性を欠失させたエルビニア・カロトボーラ細菌を含む懸濁液、粉末または粒剤を灌注または混和した後、イネ籾を植え付けることによる方法、およびイネ籾を植え付けた苗床土壌に病原性を欠失させたエルビニア・カロトボーラ細菌を含む懸濁液を散布することによる方法である。

【効果】 従来、防除が困難とされていた植物細菌病の主要な1つであるイネ苗立枯細菌病を効果的に防除することが可能となった。しかも薬害がなく、安全にイネ苗立枯細菌病を防除することができる。

#### 【特許請求の範囲】

【請求項1】 イネ籾を病原性を欠失させたエルビニア・カロトボーラ細菌を含む懸濁液中に浸漬した後、土壤中に植え付けることを特徴とするイネ苗立枯細菌病の防除方法。

【請求項2】 イネ籾に病原性を欠失させたエルビニア・カロトボーラ細菌を含む粉末をまぶした後、土壤中に植え付けることを特徴とするイネ苗立枯細菌病の防除方法。

【請求項3】 苗床に病原性を欠失させたエルビニア・カロトボーラ細菌を含む懸濁液、粉末または粒剤を灌注または混和した後、イネ籾を植え付けることを特徴とするイネ苗立枯細菌病の防除方法。

【請求項4】 イネ籾を植え付けた苗床土壤に病原性を欠失させたエルビニア・カロトボーラ細菌を含む懸濁液を散布することを特徴とするイネ苗立枯細菌病の防除方法。

【請求項5】 病原性を欠失させたエルビニア・カロトボーラ細菌がエルビニア・カロトボーラ CGE 234M403 菌株であることを特徴とする請求項1ないし請求項4のいずれかに記載のイネ苗立枯細菌病の防除方法。

#### 【発明の詳細な説明】

##### 【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は、学名エルビニア・カロトボーラ (*Erwinia carotovora*) に属する細菌を生きたままイネ籾、苗床土壤に散布またはまぶすことにより、イネ苗立枯細菌病を防除する方法に関するものである。

##### 【0002】

【従来技術とその問題点】 シュードモナス・プランタリイ細菌 (*Pseudomonas plantarii*) により引き起こされるイネ苗立枯細菌病の防除方法としては、現在適用されている農薬は少なく、効果的に防除する農薬の開発が望まれている。

##### 【0003】

【問題点を解決するための手段】 本発明者らは、鋭意検討の結果、軟腐病の防除に有効な非病原性軟腐病菌を有効成分とする微生物農薬製剤をイネ籾、苗床土壤に散布またはまぶすことにより、イネ苗立枯細菌病を有効に防除することができるを見出し、本発明に到達した。

【0004】 すなわち本発明は、イネ籾を病原性を欠失させたエルビニア・カロトボーラ細菌を含む懸濁液中に浸漬した後、土壤中に植え付けることを特徴とするイネ苗立枯細菌病の防除方法、イネ籾に病原性を欠失させたエルビニア・カロトボーラ細菌を含む粉末をまぶした後、土壤中に植え付けることを特徴とするイネ苗立枯細菌病の防除方法、苗床に病原性を欠失させたエルビニア・カロトボーラ細菌を含む懸濁液、粉末または粒剤を灌注または混和した後、イネ籾を植え付けることを特徴とするイネ苗立枯細菌病の防除方法、およびイネ籾を植え

付けた苗床土壤に病原性を欠失させたエルビニア・カロトボーラ細菌を含む懸濁液を散布することを特徴とするイネ苗立枯細菌病の防除方法である。さらに病原性を欠失させたエルビニア・カロトボーラ細菌がエルビニア・カロトボーラ CGE 234M403 菌株であることをも特徴とするイネ苗立枯細菌病の防除方法である。

【0005】 エルビニア・カロトボーラ細菌は、多くの植物の貯蔵組織を軟化腐敗させるいわゆる軟腐病を引き起こす細菌であり、不偏的に土壤に存在していることが報告されている。5年以上この菌の宿主となる作物を作っていない畑でも時として軟腐病の発生が観察される場合がある。この菌の生態は次のように考えられている

(津山博之、植物防疫 第34巻 294頁-298頁 1980年)。

例えば、白菜の場合には播種後、40日位から根部の周辺でこの細菌が増殖し、根圏土壤、葉部などのほとんどあらゆる箇所にその存在が認められるようになる。そして、台風や昆虫あるいは日常の作業などにより白菜に傷がつくと、そこから細菌が侵入し、気候条件さえ整えば一晩のうちに病原菌濃度が上昇し、病斑が認められるようになる。そこで、これらの発病を防止するため、病原性のある細菌に替って病原性のないエルビニア・カロトボーラ細菌を根圏土壤や葉部で病原株と同等に増殖させることが可能になれば、病原性のある細菌の増殖を抑えて軟腐病を防除することが期待でき、かかる考察のもと鋭意検討した結果、エルビニア・カロトボーラ細菌の変異処理株のなかから、病原性を有する系統の同細菌と競合してよく成育し、かつ、病原性をもたない系統のものを選出し、これらの病原性を欠失させたエルビニア・カロトボーラ細菌の生菌を軟腐病被災植物の根部または葉部に接種することにより、軟腐病を有効に防除できるを見出し、特許出願した(特開平3-101606号公報、特開平4-179475号公報)。

【0006】 次にこの病原性を欠失させたエルビニア・カロトボーラ細菌を作成する方法について述べる。本発明者らは、軟腐病斑のある、または健全な野菜類から多数のエルビニア属細菌を採取した。病原性を欠失させたエルビニア・カロトボーラ細菌は、これらの軟腐病菌を変異処理して作成した。変異法としては、一般的に用いられる変異試剤、例えばエチルメタンサルホニル、ニトロソグアニジンなどや紫外線を用いる方法(微生物学実験法、微生物研究法懇談会編 288頁-306頁 講談社1982年、または、微生物遺伝学実験法、石川辰夫編 3頁-32頁 共立出版 1982年)が知られており、これらに準じて処理すればよい。

【0007】 ところで、エルビニア・カロトボーラ菌の病原性の発現の主たる要因は、この菌により分泌されるペクチナーゼ、特にペクチン酸リアーゼであるとされている(後藤正夫著 新植物細菌病学 166頁 ソフトサイエンス社 1981年)。そこで、病原性欠失株の

スクリーニングは、ペクチナーゼ分泌能の低下した菌株を拾い出し、白菜切片を用いた病原性試験により行なった。病原性試験は、白菜の葉切片に傷を付け、高濃度の検定菌液を塗布し、水分存在下28℃の恒温槽に24時間静置した後にその病斑長を測定することにより行なった。

【0008】このようにして得られたエルビニア・カロトボーラ細菌の病原性欠失株を病原株と混合して傷を付けた白菜切片に接種したところ、病原株の増殖を抑制して病斑を生じさせないか、または病斑形成速度を大幅に低下させる菌株が得られた。そして、これらの病原性欠失株の中から病斑阻止能力の特に高い菌株を選択し、工業技術院微生物工業技術研究所に寄託し、以下の寄託番号が付与されている。

【0009】エルビニア・カロトボーラ サブスピ. カロトボーラ CGE6M14

微工研菌寄第10998号 (FERM P-10998)

エルビニア・カロトボーラ サブスピ. カロトボーラ CGE6M16

微工研菌寄第10999号 (FERM P-10999)

エルビニア・カロトボーラ サブスピ. カロトボーラ CGE10M2

微工研菌寄第11000号 (FERM P-11000)

エルビニア・カロトボーラ サブスピ. カロトボーラ CGE11M5

微工研菌寄第11001号 (FERM P-11001)

エルビニア・カロトボーラ サブスピ. カロトボーラ CGE234M403

微工研菌寄第11792号 (FERM P-11792)

本発明は、これらの病原性を欠失させたエルビニア・カロトボーラ細菌を用いるものであるが、より好ましくはCGE234M403菌株 (FERM P-11792) である。

【0010】次に本発明の微生物農薬の調製方法を述べる。まず、病原性を欠失させたエルビニア・カロトボーラ細菌を適当な培地で培養する。ここで使用する培地は、菌が増殖するものであれば特に限定するものではなく、通常使用されている培地を使用すればよく、20℃～35℃で10～35時間培養して増殖させた後、遠心分離して集菌を行ない、培地成分は取り除く。かかる操作で菌密度は、通常 $2 \times 10^{11} \sim 3 \times 10^{11}$  cfu/g程度に濃縮される。

【0011】ついで湿菌体をアルミナ、シリカゲル、モレキュラーシーブ、パーライト、活性炭、砂または赤土などの無機物やサッカロース、グルコース、フルクトー

ス、ソルビトールなどの1種類または2種類以上からなる糖類溶液、あるいはまた、グルタミン酸ナトリウム、リン酸ナトリウム緩衝液などからなる固定化剤中に入れ、攪拌懸濁させ、凍結乾燥する。

【0012】このようにして得られた乾燥菌体は、必要に応じて希釈剤、補助剤などを添加、混合し、製剤化する。この際の剤型は、粉剤、粒剤、水和剤、懸濁液などの通常使用されている剤型とすればよく、目的などに応じて適宜選定すればよい。

【0013】上記の希釈剤としては、珪藻土、タルク、粘土、酸性白土、ペントナイト、カオリン、木粉、タプ粉、粕粉、炭酸カルシウム、水などが具体例として挙げられ、これらの1種類のみを用いることはもちろん、2種類以上のものを組み合わせて用いることもできる。

【0014】また、補助剤としては、界面活性剤、安定剤、その他有効成分の効力増加のための強力剤などが具体例として挙げられ、これらの1種類のみを用いることはもちろん、2種類以上のものを組み合わせて用いることもできる。

【0015】以上のようにして本発明の微生物農薬が調製される。この際、製剤中の菌密度は、粉剤、粒剤の場合には $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^{11}$  cfu/g程度、また、懸濁液の場合には $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^9$  cfu/ml程度となるように調製するのが好ましい。

【0016】次に本発明の微生物農薬の使用方法を述べる。通常、イネを育苗する場合、育苗中に生じる各種の植物病、たとえばイネ粗枯細菌病 (苗腐敗症)、立枯病などを防除するためなど種子伝染性の病原菌の消毒のために各種農薬が用いられている。その使用方法として幾つかの方法があり、農薬液の中に初を浸漬する方法、農薬粉を初に粉衣する方法、苗床土壌に農薬液を灌注、または農薬粉、粒を混和する方法、初を植え付けた土壌に農薬液を散布する方法などがある。本発明の病原性を欠失させたエルビニア・カロトボーラ細菌を有効成分とする微生物農薬についてもこれらの方法をそのまま用いることができる。

【0017】つまり、本発明の微生物農薬の使用方法としては、イネ初を病原性を欠失させたエルビニア・カロトボーラ細菌を含む懸濁液中に浸漬した後、土壌中に植え付ける方法、イネ初に病原性を欠失させたエルビニア・カロトボーラ細菌を含む粉末をまぶした後、土壌中に植え付ける方法、苗床に病原性を欠失させたエルビニア・カロトボーラ細菌を含む懸濁液、粉末または粒剤を灌注または混和した後、イネ初を植え付ける方法、あるいはイネ初を植え付けた苗床土壌に病原性を欠失させたエルビニア・カロトボーラ細菌を含む懸濁液を散布する方法などを用いることができる。

【0018】これらのうち、イネ初を病原性を欠失させたエルビニア・カロトボーラ細菌を含む懸濁液中に浸漬した後、土壌中に植え付ける方法の場合、懸濁液中に浸

漬する時間は特に制限はなく、10分程度から浸種に要する数日間でもかまわない。また、浸種時または種子消毒時に種子消毒剤と混合して用いてもよいし、浸種の前後でもかまわない。

【0019】また、イネ初に病原性を欠失させたエルビニア・カロトボーラ細菌を含む粉末をまぶした後、土壤中に植え付ける方法の場合、粉末をまぶす時間は特に制限はなく、10分程度から数日間でもかまわない。また、浸種の前に行なっても後に行なってもよい。

【0020】また、苗床に病原性を欠失させたエルビニア・カロトボーラ細菌を含む懸濁液、粉末または粒剤を灌注または混和した後、イネ初を植え付ける方法、およびイネ初を植え付けた苗床土壤に病原性を欠失させたエルビニア・カロトボーラ細菌を含む懸濁液を散布する方法の場合、灌注、混和または散布する薬剤の量は、粉末、粒剤の場合には土壤1Lあたり1g～100g程度、また、懸濁液の場合には土壤1Lあたり10ml～1000ml程度とするのが好ましい。

【0021】

【実施例】以下、本発明を実施例により具体的に説明するが、本発明はこれらの実施例により限定されるものではない。

【0022】なお、実施例に用いた培地の組成を次に示す。

802培地：ポリペプトン 10g、酵母エキス 2

g、 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  1g、水 1L、PH7.0

(プレートの場合は寒天15gを含む)

#### 実施例1

802培地にエルビニア・カロトボーラCGE234M403菌株〔微工研菌寄第11792号(FERM P-11792)として寄託されている〕を接種し、30℃で15時間培養した。培養液は遠心分離機を用いて集菌を行ない、菌体濃縮液(菌数 $3.0 \times 10^{11} cfu/ml$ )を得た。ついで、固定化剤〔40% (w/w) サッカロース、2% (w/w) グルタミン酸ナトリウム、0.1Mリン酸ナトリウム緩衝液Ph7.0〕を含む溶液を乾燥凍結した後、水に溶解して菌密度が $1 \times 10^8 cfu/ml$ となるように調整した懸濁液を作成した。

【0023】イネ苗立枯細菌病菌に感染したイネ初を上記の懸濁液に3日間浸し、新しい菌懸濁液に替え、さらに3日間浸した後、播種した。対照区は菌懸濁液の代わりに水を用いて同様の操作を行なった。上記の操作は、いずれも液温15℃で行ない、その後1日間、催芽のため30℃に昇温した。植え付けから1ヵ月後にイネ苗立枯細菌病の発病調査をしたところ、表1の結果が得られた。防除価は100%であった。

【0024】

【表1】

処理区	苗数	発病苗数	発病苗率	防除価
対照区	466	209	44.8	—
CGE234M403区	452	0	0.0	100.0

#### 実施例2

実施例1と同様にして調製したエルビニア・カロトボーラCGE234M403菌株〔微工研菌寄第11792号(FERM P-11792)として寄託されている〕の懸濁液(菌密度 $1 \times 10^8 cfu/ml$ )を苗床土壤に土壤1Lあたり100ml散布した。次いで、ただちにイネ苗立枯細菌病菌に感染したイネ初を播種した。対照区は菌懸濁液の代わりに水を用いて同様の操作を

行なった。上記の操作は、いずれも液温15℃で行ない、その後1日間、催芽のため30℃に昇温した。播種から15日後にイネ苗立枯細菌病の発病調査をしたところ、表2の結果が得られた。防除価は96.3%であった。

【0025】

【表2】

処理区	苗数	発病苗数	発病苗率	防除価
対照区	89	53	59.6	—
CGE234M403区	92	2	2.2	96.3

【0026】

【発明の効果】本発明により、従来防除が困難とされていた植物細菌病の主要な1つであるイネ苗立枯細菌病を

効果的に防除することが可能となった。本発明は、生きた細菌をいわゆる生物防除策として用いる方法であり、しかも薬害がなく安全なイネ苗立枯細菌病の防除方法を

提供するものである。